

# 鸡新城疫油佐剂灭活疫苗的研究

郑世兰 姜北宇 刘福致 景小冬 姚颖 李林 李艺娟

(北京市农林科学院畜牧兽医研究所,北京·100081)

**摘要** 采用 ND Lasota 株为种毒,福尔马林为灭活剂,7 号白油为佐剂,吐温 80、司本 80 为乳化剂,硫柳汞为防腐剂,高压匀浆泵为乳化工具,研制出 ND 油佐剂灭活疫苗。其剂型为双相型(W/O/W),呈稀薄乳状液,粒度为  $1\mu\text{m}$  左右,粘度 $\leq 1\text{s}$ ,通针性好。4~8℃有效保存期 1 年。效力 $\geq 70\text{PD}_{50}$ ,最早产生免疫时间为 12 天(100%保护),生产中常用免疫剂量为 2 月龄内每只 0.5ml,2 月龄以上每只 1.0ml 皮下注射,对各日龄鸡安全无副作用。与 ND 活毒疫苗同时免疫可使各日龄鸡产生高效价的 HI 抗体,雏鸡免疫期为 2.5~3 个月,成年鸡为 12 个月。此苗可有效地预防强毒力嗜内脏型 ND 及“非典型”ND。

**关键词** 新城疫(ND) 灭活疫苗 油佐剂

鸡新城疫(ND)目前仍是我国养禽业的主要传染病。虽然采用 ND 活毒疫苗气雾免疫可以获得较为理想的保护率,临床上可以减少 ND 的发生,但是 60 日龄以内的雏鸡采用活毒疫苗气雾免疫易诱发呼吸道疾病,所以生产中多采用滴鼻、点眼、饮水等方法免疫,雏鸡不能产生良好的免疫应答反应。感染 ND 野毒后主要表现为呼吸—神经系统症状,死亡淘汰率为 30%~60%;成年鸡仅采用活毒疫苗免疫,不能持久地维持高水平 HI 抗体,同时个体之间抗体水平差异很大。遇有野毒侵袭时,有的鸡群虽无明显临床症状,但产蛋率明显下降,减蛋幅度随鸡群抗体水平不一,一般为 10%~40%。经活毒疫苗免疫后仍发生 ND 的鸡,多数不出现 ND 的全部临床症状,眼观病理变化不明显,称之为“非典型 ND”。鸡群中存在的这些低抗体水平的易感鸡,是自然界 ND 野毒的感染者和传播者。采用 ND 弱毒力疫苗与灭活疫苗同时免疫,可以提高鸡的呼吸系统局部免疫和全身免疫水平,减少鸡群中的易感鸡,对预防和净化 ND 起重要作用。

1983~1993 年共试制 858 万 ml ND 灭活疫苗,经 18 个省、市,86 个大中型鸡场的田间免疫试验与区域免疫试验,有效地控制了强毒力嗜内脏型和“非典型”ND。制定了“鸡新城疫油佐剂灭活疫苗制造及检验试行规程(草案)”,被正式列入农业部兽医生物药品制造及检验规程。

## 1 试验内容与方法

## 1.1 高压匀浆泵与胶体磨乳化 ND 灭活疫苗的比较试验

1.1.1 目的 目前国内制备油佐剂灭活疫苗的乳化工具多采用胶体磨。由于乳化过程中疫苗升温较高,制备的灭活疫苗粒度大小不均,短时间存放即分层。为提高乳化效果,选用高压匀浆泵作乳化工具与之作比较。

1.1.2 材料 7 号白油,杭州炼油厂生产;司本 80(批号 870544),上海大众药厂生产;吐温 80(分装批号 880213)美国进口分装;ND Lasota 株种毒,中监所提供,本组经 ND 非免疫种蛋复制,尿囊液  $HA \geq 1:640$ ,  $ELD_{50} \geq 10^{8.5}/0.1\text{ml}$ ,经 0.1% 福尔马林 37℃ 灭活 16h。

胶体磨 JTM<sub>50</sub>-AB<sub>1</sub> 型,沈阳新光机械厂制造;高压匀浆泵 GYB-120-6S 型,上海东华高压匀浆泵厂制造。上述两种工具均以 20% 金星消毒液浸泡 10min 消毒,然后以灭菌生理盐水冲洗。

1.1.3 胶体磨乳化 为了提高胶体磨乳化效率,采用两台胶体磨,第 1 台磨的排料管以节门(三通)连接不锈钢管道与第二台磨的物料料斗连接,以调压器控制每台胶体磨电机的转速。

a. 油包水乳剂的制备:于第 1 台胶体磨料斗内,加入灭菌 7 号白油 625ml,灭菌司本-80, 125ml,灭活毒液 250ml,调节胶体磨间隙为 18~22,电压 140V(即大间隙慢速),预混 1min,再以间隙 10~15,电压 200V 乳化 3min,制备出油包水乳剂,通过排料口将物料放入第 2 台胶体磨物料斗内,关闭节门,继续作油包水乳化。

b. 双相乳剂制备:于 1000ml 油包水乳剂中加入灭活毒液 950ml,吐温-80,30ml,1% 硫柳汞 20ml,调节胶体磨间隙为 18~22,电压 140V 预混 1min,再以间隙 8,电压 200V 乳化 4min,制备出双相乳剂。通过排料口将放入贮存桶(或罐)内,关闭节门,可继续作双相乳剂乳化。全部乳化后即可分装。

1.1.4 高压匀浆泵乳化 a、油包水乳剂的制备:以两台胶体磨作预混工具,将灭菌 7 号白油 625ml,灭菌司本-80,125ml 与灭活毒液 250ml,放入胶体磨料斗内,调节胶体磨间隙为 22,电压 140V,预混 1min,将物料排放至高压匀浆泵物料料斗内,以两台胶体磨分别作预混工具,以保证高压匀浆泵物料的充分供应,保持泵的连续运转(不可间断物料供应而导致空气进入泵腔内)。启动高压匀浆泵,先使二级阀升压至 10~15MPa,然后一级阀升压至 40MPa,即可连续制备出油包水乳剂,将乳剂贮存在物料桶内待油包水乳剂全部制备后,再进行双相乳剂的制备。

b. 双相乳剂的制备 仍以上述两台胶体磨交替作预混工具,将 950ml 灭活毒液,30ml 灭菌吐温-80,1% 硫柳汞 20ml,油包水乳剂 1000ml,放入胶体磨料斗内,调节间隙为 22,电压 140V 预混 1min,将物料排放至高压匀浆泵料斗内。启动高压均浆泵,先使二级阀升压至 10~15MPa,然后一级阀升压至 40MPa,即可连续制备出油包水、水包油双相乳剂,将乳剂贮存于物料桶内,待分装。

对两种工具的生产性能,制备出的 ND 乳状液(W/O/W)物理性状,免疫效果(每组免疫 8 周龄无 ND 抗体雏鸡 50 只,每只 0.5ml,每组抽取 10 只作 HI 及攻毒试验)作比较。

## 1.2 种毒比较试验与免疫持续期试验

1.2.1 目的 Daniel Gaudry 用 ND 强毒力株作种毒,W. H. Allan 等认为弱毒力株具有同等效果。为了便于生物制品厂采用安全有效的弱毒力株作为种毒,选择常用的 ND 四种弱毒力株作种毒制备灭活疫苗进行比较试验。

1.2.2 方法 分别以 NDV(F 株、C-30 株、Lasota 株、HB<sub>1</sub> 株),生理盐水(对照)制备双相油佐

剂灭活疫苗,免疫无母源抗体雏鸡,于免疫后 21、90 天采血作 HI 试验,同时攻 ND 强毒(中监所提供 NDV F<sub>48</sub>E<sub>6</sub>),观察 15 天。

### 1.3 鸡 ND 油佐剂灭活疫苗最早产生免疫时间试验

1.3.1 目的 为合理使用 ND 灭活疫苗,制订可行的免疫方法与程序提供依据。

1.3.2 方法 试验用鸡为非免疫种蛋孵化出的 45 日龄来航雏鸡,皮下注射以 Lasota 株为种毒制备的灭活疫苗 0.5ml/只,对照组皮下注射生理盐水制备的油乳剂,接种后隔日作 HI 试验同时攻击强毒。

### 1.4 鸡 ND 油佐剂灭活疫苗的效检试验

1.4.1 目的 效检是疫苗最重要的技术指标之一,ND 灭活疫苗效检国际标准为 50PD<sub>50</sub>。

1.4.2 方法 以不含抗原的生理盐水乳剂将 ND 灭活疫苗稀释为 1/25、1/50、1/100、1/200 四个稀释度。以每一稀释度 0.5ml 接种 4~6 周龄无母源抗体的雏鸡 10 只,免疫后 3 周连同对照鸡 5 只,每只肌肉注射  $5 \times 10^5$  ELD<sub>50</sub> ND 强毒,观察 14 天。记录每组死亡与保护的鸡数。对照组 6 天内应全部死亡,计算 50% 的保护剂量,以 PD<sub>50</sub> 表示。按 Karbar 法计算,  $LgPD_{50} = L - d(S - 0.5)$ ,其中 L 为疫苗最低稀释度的对数;d 为稀释度之间的对数差;S 为被保护的比值和。

### 1.5 ND 油佐剂灭活疫苗保存期试验

1.5.1 目的 疫苗的保存期试验是重要的技术指标之一,为生产中合理贮运提供依据。

1.5.2 方法 将同批次疫苗在不同条件下(4~8℃,室温,37℃)贮存,间隔不同时间取出,免疫无 ND 抗体的 32 日龄雏鸡,3 周后每组抽测 10 只 HI 效价,同时攻击强毒。

### 1.6 ND 灭活苗最小免疫剂量试验

1.6.1 目的 为生产应用提供可靠的免疫剂量。

1.6.2 方法 以 50 日龄不带有母源抗体的雏鸡分别以 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5ml ND 油佐剂灭活疫苗颈后皮下注射,每周随机抽样 10 只,测定 HI 价。免疫后 3、10、12 周攻击强毒。

### 1.7 鸡 ND 油佐剂灭活疫苗对雏鸡的免疫试验

1.7.1 ND 灭活疫苗对 1 日龄雏鸡的免疫试验 测定 ND 灭活疫苗及灭活疫苗与弱毒力疫苗同时免疫 1 日龄带有母源抗体雏鸡的免疫效果,将 1 日龄来航雏鸡和肉雏鸡各分为 5 组(灭活疫苗免疫组,灭活苗与活苗“HB<sub>1</sub>”同时免疫组,活毒疫苗“HB<sub>1</sub>”免疫组,另设两组对照),每组 50 只鸡,免疫剂量为灭活苗 0.5ml/只皮下注射,HB<sub>1</sub>10 倍稀释滴鼻,点眼。免疫后定期作 HI 试验,分别于免疫后 4、12 周攻毒。

1.7.2 ND 灭活疫苗对 3 周龄雏鸡的免疫试验 为了测定 ND 灭活疫苗及灭活疫苗与弱毒力疫苗同时免疫 3 周龄雏鸡的免疫效果,将 3 周龄来航雏鸡和肉雏鸡各分为 5 组(灭活疫苗免疫组,灭活苗与活毒苗“HB<sub>1</sub>”同时免疫组,活毒疫苗“HB<sub>1</sub>”免疫组,另设两组对照),每组 50 只鸡,免疫剂量为灭活苗 0.5ml/只皮下注射,HB<sub>1</sub>10 倍稀释滴鼻,点眼。于 7 日龄除非免疫对照组外均以 HB<sub>1</sub>10 倍稀释滴鼻、点眼作基础免疫。免疫后定期作 HI 试验,分别于免疫后 4、12 周攻毒。

### 1.8 ND 灭活疫苗对 125 日龄成年来航母鸡的免疫试验

1.8.1 目的 成年鸡只有维持高水平 HI 抗体才能防止感染 ND 野毒导致产蛋下降。本试验测定灭活疫苗免疫后 HI 抗体的消长动态。

1.8.2 方法 将已经过3次弱毒力疫苗免疫的125日龄鸡按鸡舍分为两组,每舍6000只(一个鸡舍以灭活疫苗免疫,另一舍以Lasota株活苗气雾免疫),另设正常胚液制备油乳剂的对照组64只。免疫后定期测HI效价。

2 结果与分析

2.1 高压匀浆泵用作ND灭活疫苗的乳化工具比胶体磨效率高10倍,每小时可乳化120L,疫苗乳化后升温低7~10℃,粒度小而均匀(1μm),室温保存97天瓶底开始有少量水析出(胶体磨仅12天)说明其稳定性好。设备可连续运转8h以上,胶体磨则不能,否则电机易损坏。制备的灭活疫苗近期免疫效果无差异。高压匀浆泵乳化的乳化压力2级阀10MPa,1级阀40MPa效果最好(见表1)。

表1 高压匀浆泵与胶体磨乳化ND灭活苗(W/O/W)的比较试验

组 别	产 量 (L/h)	噪 声 (dB)	物后乳 化后升 温(℃)	可否 连续 运转	物 理 性 状*			免疫前 抗体 水平 HI (log2)	免疫后三周	
					离心 管底 出水 (mm)	粘度 (s)	粒度 (μ) 20~24℃ 室温保存 (d)		HI (log2)	攻毒 保护数/ 攻毒数
高压 匀浆 泵乳化	2级阀 10/10 (MPa)10/30	120	<80	7~10 可连续 运转8h 以上	3	1	1~3	37	0.6	7.6 10/10
					3	1	1	55	0.6	7.5 10/10
	1级阀 10/40 (MPa)10/50				2	1	1	97	0.6	7.6 10/10/
					3	1	≤1	50	0.6	6.6 10/10
胶体磨乳化	12	>100	20~30	不能	6	1.4	1-2-3	12	0.6	6.8 10/10
对照(不含抗原 乳状液)									0.6	0 0/5

\* 离心:每分钟3500转,离心15min,试管底部析出水的深度。

20~24℃室温保存天数:指100ml疫苗瓶底部开始有少量析出的水。

2.2 四种ND弱毒株作种毒制备的灭活疫苗,免疫后21天、90天HI效价无显著差异(F检验,P>0.05)。攻毒全部保护,选择常用的弱毒株为种毒制备的灭活疫苗免疫持续期为3个月(见表2)。

表2 4种弱毒力株制备油佐剂灭活苗的免疫效果比较

攻毒时间	各 组 结 果									
	C-30		F		Lasota		HB <sub>1</sub>		对照	
	HI (log2)	保护数/ 攻毒数	HI (log2)	保护数/ 攻毒数	HI (log2)	保护数/ 攻毒数	HI (log2)	保护数/ 攻毒数	HI (log2)	保护数/ 攻毒数
免疫后21天	7.6	10/10	7.8	10/10	6.9	10/10	6.9	10/10	0	0/5
免疫后90天	6.0	5/5	3.6	5/5	5.4	5/5	4.6	5/5	0	0/5

2.3 接种ND灭活疫苗后6天开始出现HI抗体,攻毒保护60%,12天攻毒100%保护,2周后HI抗体进入高峰(见表3)。

表 3 最早产生免疫时间 HI 攻毒结果

组别	各免疫后天数	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
试验组	HI(log2)	0.2	0.2	1.3	3.0	3.5	3.9	5.7	6.9	6.0	5.9	4.9
	保护数/攻毒数		0/10	0/10	6/10	6/10	6/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	保护率(%)		0	0	60	60	60	100	100	100	100	100
对照组	HI(log2)	0.8	1.2	0.4	2.0	2.0	1.6	2.0	2.0	2.0	1.2	2.0
	保护数/攻毒数		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	保护率(%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.4 例举 3 批 ND 灭活疫苗效力试验分别为 87PD<sub>50</sub>、100PD<sub>50</sub>、76PD<sub>50</sub>，均超过国际标准 50PD<sub>50</sub>(见表 4)。

表 4 三批 ND 灭能苗的 PD<sub>50</sub> 试验

疫苗稀释度		被保护比例(保护数/攻毒数)		
		89512 批	89617 批	8977 批
	1/20(10 <sup>-1.4</sup> )	9/10	9/10	8/10
	1/50(10 <sup>-1.7</sup> )	7/10	8/10	7/10
	1/100(10 <sup>-2.0</sup> )	6/10	6/10	6/10
	1/200(10 <sup>-2.3</sup> )	1/10	2/10	0/10
计 算	S	2.3	2.5	2.1
	L	-1.4	-1.4	-1.4
	d	0.3	0.3	0.3
	lgPD <sub>50</sub>	-1.94	-2.0	-1.88
	PD <sub>50</sub>	1/87	1/100	1/76
	0.5ml 含	87PD <sub>50</sub>	100PD <sub>50</sub>	76PD <sub>50</sub>

2.5 多批疫苗保存期试验结果相同。仅以 89617 批号 ND 灭活疫苗的保存期试验为例,4~10℃、室温(不超过 25℃)保存一年免疫效果不变;37℃ 仅能保存 5 个月(见表 5)。而疫苗的物理性状以 4~10℃ 保存效果最佳。

表 5 89617 批号 ND 灭活苗保存期试验

保存时间 (月数)	不同条件下保存的免疫效果							
	4~10℃组		室温组		37℃组		对照组	
	HI (log2)	攻毒 保护数/ 攻毒数	HI (log2)	攻毒 保护数/ 攻毒数	HI (log2)	攻毒 保护数/ 攻毒数	HI (log2)	攻毒 保护数/ 攻毒数
1	9.1	10/10	9.0	10/10	8.3	10/10	0.4	0/5
3	8.1	10/10	7.7	10/10	6.0	10/10	0.4	0/5
5	8.7	10/10	7.9	10/10	6.7	10/10	1.6	0/5
7	8.0	10/10	6.9	10/10	5.7	9/10	0.5	0/5
8	9.8	10/10	9.3	10/10	4.8	9/10	0	0/5
9	6.8	10/10	6.4	10/10	4.1	8/10	0	0/5
10	7.5	10/10	7.6	10/10	/	/	0	0/5
12	8.0	10/10	7.7	10/10	/	/	0	0/5

2.6 不同剂量 ND 灭活疫苗免疫后 3 周 HI 抗体均明显上升,攻毒只有 0.2ml 及 0.5ml 组 100%保护,免疫后 10 周只有 0.5ml 组攻毒 100%保护(见表 6)。认为雏鸡免疫剂量以 0.5ml 为宜。

表 6 不同剂量灭活苗免疫后 HI 及攻毒结果

免 疫 后 周 龄	HI(log2) 及 攻 毒 结 果						对 照
	0. 01	0. 02	0. 05	0. 1	0. 2	0. 5	
1	2. 5	2. 1	3. 1	2. 6	3. 5	3. 9	1. 4
2	4. 1	4. 9	5. 8	5. 8	6. 7	7. 5	1. 9
3	5. 2	6. 1	7. 8	7. 0	8. 1	9. 7	3. 0
3 攻毒	[4/10]	[2/10]	[1/10]	[1/10]	[0/10]	[0/10]	[3/3]
4	5. 3	5. 1	5. 9	8. 4	8. 0	8. 9	0. 7
5	1. 4	4. 1	4. 0	4. 7	6. 3	7. 3	0
6	1. 1	1. 3	2. 4	3. 6	5. 2	6. 1	0
7	3. 3	2. 8	3. 1	5. 1	5. 9	6. 4	0
8	3. 4	4. 2	4. 7	5. 2	6. 7	7. 4	0
9	3. 0	3. 9	4. 2	5. 2	6. 7	7. 1	1
10	3. 5	3. 4	4. 5	4. 3	5. 9	5. 9	0
10 攻毒	[2/5]	[2/5]	[1/4]	[1/5]	[2/5]	[0/5]	[3/3]
11	1. 7	2. 3	1. 7	3. 6	4. 5	6. 3	0
12	3. 1	4. 5	2. 0	4. 1	4. 1	6. 1	1
12 攻毒	[1/5]	[1/5]	[1/4]	[1/5]	[1/5]	[1/5]	[5/5]

注:1. 分组鸡只数:0.01 组 33 只,0.02 组 32 只,0.05 组 32 只,0.1 组 40 只,0.2 组 38 只,0.5 组 50 只,对照组 20 只。  
2. 攻毒:NDVF<sub>48</sub>E<sub>6</sub>本组制备二代  
3. 3 周龄攻毒量为 10<sup>-3</sup>,0.5ml;10、12 周龄攻毒量为 10<sup>-3</sup>,1.0ml [死亡数/攻毒数]。

2.7 ND 灭活疫苗对带有母源抗体的 1 日龄雏鸡的效果,以灭活疫苗与弱毒苗同时免疫产生的 HI 抗体最高,免疫后 4 周攻毒全部保护;灭活疫苗组 HI 效价高于活毒疫苗免疫组;活毒疫苗免疫组 HI 抗体反应最差(<1:20),攻毒保护率最低(见表 7、表 9)。认为生产中雏鸡 1 日龄仅用弱毒力疫苗免疫,不能产生良好的免疫应答反应。根据生产需要 1 日龄雏鸡可以采用 ND 弱毒力疫苗与灭活疫苗同时免疫,预防疫场 ND 的发生。

表 7 鸡 ND 灭活苗对 1 日龄雏鸡的免疫(HI 滴度)

组 别		免疫后(周)					
		2	4	6	7	9	12
		HI (GM)					
灭活苗组	蛋雏	11.3	21.5	32.5	74.6	15.2	26.4
	肉雏	2.6	30.5	20.4	21.0	15.2	15.1
灭活苗+活苗组	蛋雏	14.8	130.0	63.5	64.9	56.6	32.5
	肉雏	14.1	74.6	56.6	69.2	69.6	28.3
活苗组	蛋雏	5.3	12.4	5.2	1.5	3.9	5.2
	肉雏	2.1	10.7	5.9	2.3	1.7	3.8
正常胚液灭活苗对照组	蛋雏	2.3	7.4	2.0	1.2	2.2	4.9
	肉雏	0	4.5	0	1.2	0	2.5
(非免疫对照组)	蛋雏	1.1	5.3	1.4	0	1.4	0
	肉雏	1.1	1.7	0	0	0.5	1.4

ND 灭活疫苗对 3 周龄(7 日龄的弱毒力活苗作过基础免疫)雏鸡的免疫效果,灭活疫苗免疫组及灭活疫苗与弱毒力疫苗共同免疫组 HI 抗体效价、攻毒保护率最高,免疫持续期最长(100%保护至少 3 个月)。仅用弱毒力苗免疫后 12 周保护率为 70%~80%(见表 8、表 9)。证明雏鸡只用 ND 弱毒力疫苗于 7、21 日龄两次滴鼻、点眼免疫不能产生良好的免疫应答。

表 8 鸡 ND 灭活苗对 3 周龄雏鸡(二免)免疫试验(HI 滴度)

组 别		免疫后(周)					
		0	1	3	5	7	13
		(二免前)	HI (GM)				
灭活苗组	蛋雏	10.6	65.0	226.0	260.0	60.6	98.47
	肉雏	15.5	130.0	169.0	65.0	20.5	64.97
灭活苗+活苗组	蛋雏	10.6	91.9	184.0	180.0	74.7	148.25
	肉雏	15.5	98.5	201.0	106.0	42.9	100.69
活苗组	蛋雏	10.6	4.7	4.8	7.3	1.2	30.31
	肉雏	10.5	7.4	1.6	5.5	3.8	34.82
正常胚液灭活苗对照组	蛋雏	10.6	2.6	3.3	4.8	8.6	7.367
	肉雏	15.5	3.8	2.2	4.8	3.2	15.89
(非免疫对照组)	蛋雏	10.6		0	1.4	0	7.94
	肉雏	15.5		0	0.5	1.4	2.71

备注:7 日龄 HB<sub>1</sub> 滴鼻点眼作首免。

表 9 鸡 ND 灭活苗与活毒苗免疫 1 日、3 周龄雏鸡的攻毒试验

组 别	免疫后 (周)	灭活苗组		活苗+灭活苗组		活苗组		正常胚液灭活苗组		非免疫对照组	
		蛋雏	肉雏	蛋雏	肉雏	蛋雏	肉雏	蛋雏	肉雏	蛋雏	肉雏
1 日龄 免疫	4	18/20 (90%)	16/20 (80%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	14/20 (70%)	19/20 (95%)	2/20 (10%)	2/20 (10%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)
	12	6/8 (75%)	5/6 (83%)	7/8 (87.5%)	6/6 (100%)	2/8 (25%)	1/6 (17%)	0/8 (0%)	0/6 (0%)	0/4 (0%)	0/4 (0%)
3 周龄 免疫	4	9/10 (90%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	9/10 (90%)	10/10 (100%)	9/10 (90%)	10/10 (100%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)
	12	9/9 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	7/10 (70%)	8/10 (80%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)

注:(保护率)为保护数/攻毒数。

2.8 ND 灭活疫苗对 125 日龄产蛋母鸡的免疫试验,灭活疫苗免疫组 HI 效价高于 Lasota 株气雾免疫组,免疫持续期亦长,免疫 12 个月 HI 效价仍大于 1:200(见表 10)。

表 10 鸡 ND 灭活苗对 125 日龄开产前母鸡的免疫试验(HI 滴度)

组 别	免 疫 后 (周)													
	2	3	4	6	8	10	11	13	15	21	22	24	32	48
	HI(GM)													
灭活苗组	139.25	319.89	787.59	368.0	557.0	520.0	520.0	243.0	557.0	367.45	196.92	278.57	226.27	211.12
Lasota 株 气雾免疫组	79.98	171.44	91.88	40.0	74.7	35.7	85.7	74.1	52.8	98.47	34.82	22.97	20.00	14.14
正常胚液制灭 活苗对照组	69.63	79.98	49.24	23.0	40.0	21.4	32.5	24.6	69.6	56.56	14.82	10.00	6.16	4.16

注:免疫前已经 3 次弱毒力苗免疫,125 日龄 HI 平均滴度为 80(GM)

3 讨论

以 ND 非免疫种蛋制备 ND Lasota 株,ELD<sub>50</sub>达到 10<sup>8</sup>/0.1ml 以上作为种毒,杭州炼油厂生产的 7 号白油为佐剂,采用高压匀浆泵乳化制备的 ND 双相油佐剂灭活疫苗效价≥76PD<sub>50</sub>,乳状液稀薄,稳定性好,是制备 ND 灭活疫苗的技术关键。

我国养鸡数量大,环境条件复杂,仅用 ND 活毒疫苗免疫仍可能发生“非典型”ND。ND 灭

活疫苗适用于各日龄鸡,安全无任何副作用,免疫后鸡群可以产生均匀的高水平 HI 抗体和坚强保护力,特别是 ND 灭活疫苗与活毒疫苗共同免疫效果更好,减少了鸡群中易感鸡的数量,是我国控制和消灭 ND 的关键措施。

一般鸡场的免疫程序为 7~12 日龄雏鸡 ND 首先采用弱毒力疫苗滴鼻、点眼;3~4 周龄活毒疫苗滴鼻、点眼同时皮下注射灭活疫苗 0.5ml/只;120 日龄灭活疫苗 1.0ml/只皮下注射同时气雾免疫 ND Lasota 株。在 ND 高发区,1 日龄、45~50 日龄、120 日龄可三次采用 ND 灭活疫苗皮下注射与活毒疫苗同时免疫控制和预防 ND。

### 参 考 文 献

- 1 殷震,刘景华. 动物病毒学. 北京:科学出版社,1985,280
- 2 王明俊,沈福庆. 矿物油佐剂疫苗研究. 兽医药品通讯(中国兽药监察所),1983,(3):1~20
- 3 无锡轻工业学院,天津轻工业学院,食品工程原理(上册). 北京:轻工业出版社,1985,462~479
- 4 (美)P. 贝歇尔著,北京大学化学系胶体化学教研室译. 乳状液理论与实践(修订本). 北京:科学出版社,1978
- 5 傅永芬. 兽医生物统计讲义. 北京农业大学出版社,1984,65~78
- 6 Allan WH. Newcastle disease vaccines, their production and use. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1978
- 7 Brugh M, Stone HD and Lupton HW. Comparison of inactivated Newcastle disease viral vaccines containing different emulsion adjuvants. Am J Vet Res, 1983, 44: 72~75
- 8 Paul Becher. Encyclopedia of emulsion technology. 1985, Vol Application; 159~225
- 9 Stone HD, Brugh M and Beard CW. Influence of formation on the efficacy of experimental oil-emulsion Newcastle disease vaccines. Avian Dis, 1983, 27: 688~697
- 10 Stone HD, Brugh M and Beard CW. Comparison of three experimental inactivated oil-emulsion Newcastle disease vaccine. Avian Dis, 1981, 25: 1070~1076
- 11 Stone HD, Brugh M, Hopkins SR et al. Preparation of inactivated oil-emulsion vaccines with avian viral or mycoplasma antigens. Avian Dis, 1978, 22: 666~674
- 12 Samberg Y. Disease Production and Control in Poultry Production. Sydney, 1983, 227~232.



## Studies on Inactivated Oil Emulsion Vaccine Against Newcastle Disease

Zheng Shilan     Jiang Beiyu     Liu Fuzhi     Jing Xiaodong  
Yao Ying     Li Lin     Li Yijuan

(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Beijing  
Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing)

**Abstract**     Inactivated oil emulsion vaccine against ND was studied and prepared successfully, by using NDV Lasota strain as seed virus, formalin as inactivating agent, No 7 white mineral oil as adjuvant, Tween-80 and span-80 as emulsifiers, merthiolate as preservative. This oil-emulsion vaccine, of a double emulsion type (W/O/W), had particles about  $1\mu\text{m}$  in diameter. The vaccine was thin emulsion with the viscosity  $\leq 1$  second, it was easy to inject. Under  $4-8^{\circ}\text{C}$ , the vaccine can be preserved for over one year. Potency tests indicated the dosage was  $\geq 70\text{PD}_{50}$ . The earliest immunity was produced at 12 days after inoculation (100% protection). Practically, the preferred dosage was 0.5ml per bird for birds within 2 months of age, and 1.0ml per bird for the birds older than 2 months of age. The vaccine was safe for chickens of any ages, and had no adverse effects. When combined with live ND vaccines, it could induce high HI antibody for chicks of any ages. Immune periods lasted 2.5 to 3 months for chickens and more than 6 months for adult birds. The viscerotropic velogenic ND and atypical ND can be prevented effectively by using this vaccine.

**Key words:** Newcastle Disease (ND); Inactivated vaccine; Oil Emulsion

### 欢迎订阅 1996 年《内蒙古农业科技》

《内蒙古农业科技》是内蒙古农业科学院和内蒙古农学会合办的综合性农业期刊。本刊立足内蒙,面向全国,突出自治区农业特色,主要报道农业科技成果、学术论文、研究报告、丰产经验、先进技术、现代农业科技知识和国内外科技新动态等。适合农业科技工作者、农业院校师生、农业管理人员、农村科技骨干阅读。本刊为双月刊,16开本,40页,每期定价1.50元,全年9.0元。邮发代号16—70。请到当地邮局订阅。